

# VU Research Portal

## Li-Fraumeni syndrome, clinical and molecular genetics

Ruijs, M.W.G.

2010

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

### **citation for published version (APA)**

Ruijs, M. W. G. (2010). *Li-Fraumeni syndrome, clinical and molecular genetics*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

### **General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

### **Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

### **E-mail address:**

[vuresearchportal.ub@vu.nl](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

---

# Chapter **7**

Chapter **7.1**  
Summary

Chapter **7.2**  
Samenvatting



# Chapter **7.1**

## Summary



## Summary

**Chapter 1** provides a general introduction to the Li-Fraumeni syndrome. Frederic P. Li and Joseph F. Fraumeni studied the possible association between childhood-onset sarcoma and breast cancer, after the referral of two cousins who both developed rhabdomyosarcoma in childhood. Subsequently, Li and Fraumeni suggested the existence of a new familial cancer syndrome with a predisposition to sarcoma, breast cancer, brain tumour, adrenal cortical carcinoma and leukaemia. In literature, various clinical criteria for Li-Fraumeni Syndrome (LFS) have been proposed, as listed in Table 1. LFS patients are at risk for multiple primary tumours: about 27% - 50% of LFS patients develop a second primary tumour.

In 1990 germline *TP53* mutations were found in LFS kindreds and DNA analysis became available. Because germline *TP53* mutations were also detected in families not fulfilling the LFS criteria, less stringent criteria for “Li-Fraumeni-like” (LFL) syndrome were defined. The LFL criteria were also based on the familial occurrence of cancer and included three affected family members. Subsequently, in 2001, Chompret et al. defined a novel set of criteria, updated in 2009, that included indications for *TP53* analysis in sporadic cancer patients. Table 1 gives an overview of the LFS, LFL, Chompret en revised Chompret criteria.

According to the literature, about 75% of LFS families, 40% of LFL families and 30% of families fulfilling the 2001 Chompret criteria carried pathogenic *TP53* germline mutations. Currently, 423 *TP53* germline mutations have been identified in the IARC mutation database (<http://www-p53.iarc.fr/>). The proportion of *de novo* *TP53* germline mutations is between 7 and 24%. Since not all LFS or LFL families carry a *TP53* germline mutation, other LFS candidate genes have been considered, but at present no alternative LFS genes have been identified.

In *TP53* mutation carriers the life time cancer risk is estimated to be 68%-100%; for women the risk is higher than for men. Management of *TP53* mutation carriers remains a difficult issue, due to the different tumour sites and types of cancer involved and the variable ages of onset. In addition, for most LFS/LFL tumour types early detection and treatment are not available. Breast cancer surveillance is recommended for all female mutation carriers. It is still controversial whether mammography should be avoided due to increased radiosensitivity of *TP53* germline mutation carriers. An annual clinical review and abdominal ultrasound during childhood are advised by some authors, surveillance can be recommended according to the familial phenotype (Chapter 5.1).

The aims of this thesis are highlighted in Chapter 1.9. The main objective of this study was to define recommendations for genetic counselling of Li-Fraumeni syndrome families by collecting all families tested for *TP53* germline mutations in the Netherlands and determine which families carry a *TP53* germline mutation (Chapter 2). In addition, the *CHEK2* gene was screened for mutations as a possible candidate gene for *TP53*-negative Li-Fraumeni syndrome (Chapter 3). The SNP309 (T>G variation) in the *MDM2* gene was assessed in both *TP53*-positive and *TP53*-negative families to study its effect on age of tumour onset in *TP53*-positive families and to investigate whether it plays a role in *TP53*-negative families (Chapter 4). The complexities of counselling are addressed in Chapter 5 by describing two *TP53* mutation families. Finally, the collected data led to a guideline for genetic counselling and recommendations for Li-Fraumeni syndrome families (Addendum).

**Table 1. Different criteria for *TP53* germline mutation testing**

<u>Classical LFS criteria</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- a proband with sarcoma diagnosed under the age of 45 years</li> <li>AND</li> <li>- a first-degree relative with any cancer under 45 years</li> <li>AND</li> <li>- another first- or second-degree relative with either cancer under 45 years or a sarcoma at any age</li> </ul>
<u>LFL criteria</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- a proband with any childhood cancer or sarcoma, brain tumour or adrenal cortical tumour under the age of 45 years</li> <li>AND</li> <li>- a first- or second degree relative with a typical LFS cancer at any age</li> <li>AND</li> <li>- a first- or second degree relative in the same lineage with any cancer under 60 years</li> </ul>
<u>2001 Chompret criteria</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- a proband affected by a narrow spectrum cancer (sarcomas, brain tumours, breast cancer and adrenal cortical carcinoma) before 36 years and at least one first or second degree relative affected by a narrow spectrum tumour (other than breast cancer if the proband is affected by breast cancer) before 46 years or multiple primary tumours</li> <li>OR</li> <li>- a proband with multiple primary tumours two of which belong to the narrow spectrum and the first of which occurred before 36 years</li> <li>OR</li> <li>- a proband with adrenal cortical carcinoma whatever the age of onset and family history</li> </ul>
<u>2009 Chompret criteria</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- a proband with a tumour belonging to the LFS tumour spectrum (soft tissue sarcoma, osteosarcoma, brain tumours, pre-menopausal breast cancer, adrenal cortical carcinoma, leukaemia, lung bronchoalveolar cancer) before 46 years and at least one first or second degree relative with an LFS tumour (except breast cancer if the proband is affected by breast cancer) before 56 years or multiple primary tumours</li> <li>OR</li> <li>- a proband with multiple primary tumours (except multiple breast tumours), two of which belong to LFS tumour spectrum and the first of which occurred before 46 years</li> <li>OR</li> <li>- a proband with adrenal cortical carcinoma or choroid plexus tumour, irrespective of the family history</li> </ul>

**Chapter 2** gives an overview of all known families suspected of harbouring a germline *TP53* mutation in the Netherlands (180 families tested) and the mutation detection rate and sensitivity of different selection criteria applied to these families (Table 2). A total of 180 families was screened for *TP53* germline mutations in the period 1995 to 2008; 24 mutation families were detected. In total 105 families fulfilled the revised Chompret criteria, 22 families carried a *TP53* germline mutation (mutation detection rate 21%, sensitivity 92%). Of the 11 classical LFS families 8 families carried a *TP53* germline mutation (73%), of the 36 families fulfilling the LFL criteria 10 carried a *TP53* germline mutation (28%). The sensitivity of the combined LFS/LFL criteria was 75% (18/24).

**Table 2.**

<b>(family) history</b>		<b>Number of families (n=180)*</b>	<b><i>TP53</i> positive families (n=24)</b>
Revised Chompret	(including 10 LFS and 31 LFL)	105	22 (21%)
LFS		11	8 (73%)
	LFS not fulfilling revised Chompret	1	0 (0%)
LFL		36	10 (28%)
	LFL not fulfilling revised Chompret	4	0 (0%)
LFS-suspected (not fulfilling revised Chompret, LFS, LFL)		70	2 (2.9%)

\*Total number of families tested for *TP53* germline mutations: 105 + 1 + 4 + 70 = 180

The mutation detection rate for families fulfilling the revised Chompret criteria was 21% with a high sensitivity (22 out of 24 mutations would have been detected, 92%). Therefore, we recommend performing *TP53* mutation analysis in all families fulfilling the revised Chompret criteria. The 2 mutations that would not have been found, using these criteria, were detected in a child with a rhabdomyosarcoma and a woman who developed breast cancer at 24 years of age. Therefore, *TP53* germline mutation testing may be considered also for childhood sarcoma and breast cancer before 30 years of age without a *BRCA1/2* mutation. In the second part of the study the different tumour types with their associated elevated risks are described. The relative risks to develop pancreatic cancer, colon cancer and liver cancer are significantly increased in *TP53* mutation carriers. Because metastatic liver disease could not be excluded, only the pancreatic and colon cancer might be LFS-component tumours.

The mutation detection rate in families with suspected LFS is not 100%, which has led to the hypothesis of additional candidate genes. In **Chapter 3** we present the results of screening for *CHEK2* germline mutations in our *TP53*-negative families. We were able to screen 65 Dutch *TP53*-negative candidate patients out of families with suspected LFS (1 LFS family, 35 LFL families and 29 LFS-suggestive families) for *CHEK2* germline mutations to determine their contribution to the LFS/LFL phenotype. Six index patients were identified with a *CHEK2* sequence variant, four with the c.1100delC variant and two sequence variants of unknown significance, p.Phe328Ser and c.1096-?\_1629+?del. In all four of the c.1100delC families, this sequence variant seemed to be associated with breast cancer or breast and colorectal cancer, there is no evidence that the sequence variants found caused the complete LFS phenotype in these families. In our sample the frequency of the *CHEK2* c.1100delC variant was 6.2% (4/65), significantly different from that for healthy controls ( $p=0.006$ ). Our data illustrate that *CHEK2* is not a major LFS susceptibility gene in the Dutch population, although the *CHEK2* gene might be a factor contributing to individual tumour development. Therefore, these families with *CHEK2* mutation carriers may subsequently be recognised as having a Li-Fraumeni phenotype. In



addition to the *CHEK2* gene, many more modifiers or low penetrance susceptibility genes might occur in families showing a Li-Fraumeni phenotype.

The influence of modifier genes might also be an explanation for the variation in clinical expression in *TP53* mutation families. In 2004 it was shown that a single nucleotide polymorphism in the *MDM2* gene, SNP309 (T>G variation), was associated with accelerated tumour formation in LFS patients who carry a *TP53* germline mutation. In **Chapter 4** we evaluated this finding in our patient population. Furthermore, 11 Finnish *TP53* mutation carriers were also included to enlarge our study population. Our results confirm the findings. Moreover, even a 16-year earlier age of tumour onset was shown for *TP53* mutation carriers with a SNP309 G allele (G/G and G/T) compared to the T/T SNP 309 group. In addition, we investigated whether the SNP309 G allele plays a role in the Dutch *TP53*-negative LFS and LFS-suspected patients. The age of tumour onset was not significantly different for SNP 309 G allele patients compared to T/T patients in our *TP53*-negative LFS and LFS-related groups. We did find a higher prevalence of *MDM2* SNP309 homozygous G/G carriers in the *TP53*-negative LFS and LFS-related patients than in the general population. These data suggest that homozygosity for SNP309 (G/G) contributes to the LFS phenotype, but further confirmation is needed.

In **Chapter 5** the complexities of counselling *TP53* mutation families are addressed by describing two *TP53* mutation families. In **Chapter 5.1** a kindred is described with late-onset common cancers and a p.Arg213Gln *TP53* germline mutation. Although the family fulfils the LFL criteria, the carriers developed a variety of common cancers without a clear-cut early onset of disease. In addition, 10 mutation carriers were without any malignancy (age 21-53 years) and 3 out of 15 affected family members did not carry the *TP53* germline mutation. Therefore, we evaluated the functional effect of the germline *TP53* mutation and the possible contribution of other genetic defects in this family. A functional test (FASAY) showed that the mutated allele lacks biological transcriptional activity and no mutations were found in *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *MLH1*, *MSH2* and *MSH6* in selected family members. In addition, this specific mutation was previously found in a LFS family and has been reported as a somatic mutation; the mutation is located in the DNA-binding domain and was absent in healthy controls. On the basis of these results we concluded that this p.Arg213Gln *TP53* mutation is a causative factor in this family and that specific *TP53* germline mutations can show reduced penetrance and later average age of onset of cancer. In **chapter 5.2** a classical LFS family is described in which two *TP53* germline mutations were detected, an intron 5 splice site mutation and the exon 7 p.Asn235Ser mutation. The latter mutation was detected through pre-symptomatic DNA testing in a healthy family member and had been reported repeatedly in the literature as a pathogenic mutation. Because the mutation did not segregate in our family, the functional test (FASAY) showed normal transcriptional activity, the mutation was found once in 300 controls, splice site prediction programs predicted no cryptic splice site and the 5 studies reported in the literature did not include functional tests, did not test controls and did not have classical LFS families, we conclude that p.Asn235Ser is a rare neutral variant or at best a low penetrance allele rather than a pathogenic mutation for LFS. When germline sequence variants with uncertain functional effects are detected, additional tests should be performed to confirm the pathogenicity of the mutation.

The general discussion in **chapter 6** addresses the mutation detection rate and sensitivity of different criteria applied to Dutch families suspected of harbouring a *TP53* germline mutation. We recommend using the revised Chompret criteria because a high sensitivity with a mutation detection rate of 21% is achieved, the mutation detection rate for women who develop breast cancer before 30 years of age is discussed. In addition, the psychological consequences of *TP53* germline mutation testing are considered. Also, the role of modifiers and low penetrance genes in families with a LFS phenotype is evaluated. In addition to the *CHEK2* gene and SNP309 in the

*MDM2* gene, other genes might be identified which influence the familial phenotype of *TP53*-negative families and the phenotype of *TP53* mutation carriers. Finally, perspectives on future research are presented.

**The Addendum** provides a guideline for recommendations and management of LFS. This is a translation of a Dutch guideline that was drawn up in cooperation with the Dutch foundation of detecting hereditary tumours and the Dutch committee of clinical oncogenetics (STOET, WKO).



# Chapter **7.2**

Samenvatting



## Samenvatting

In mijn proefschrift geef ik een overzicht van het Li-Fraumeni syndroom in Nederland, zowel klinisch als moleculair. Het belangrijkste doel van mijn studie was om tot aanbevelingen te komen voor genetische counseling in families verdacht voor het Li-Fraumeni syndroom of *TP53* mutatie families (doel van mijn studie, hoofdstuk 1.9).

In **hoofdstuk 1** wordt een algemene introductie gegeven over het Li-Fraumeni syndroom (LFS). Frederick P. Li en Joseph F. Fraumeni bestudeerde de mogelijke associatie van sarcomen op de kinderleeftijd en borstkanker, nadat twee neven met een rhabdomyosaroom op de kinderleeftijd waren verwezen. Vervolgens opperen Li en Fraumeni de mogelijkheid van een nieuw familiair kanker syndroom met een predispositie voor sarcoom (uitgaande van het bot of de weke delen), borstkanker, hersentumor, bijnierschorscarcinoom en leukemie. De klinische criteria voor LFS staan vermeld in tabel 1. LFS patiënten hebben een verhoogde kans op het ontwikkelen van meerdere primaire tumoren: in 27% tot 50% van de LFS patiënten wordt een tweede primaire tumor gevonden. In 1990 werden *TP53* kiembaan mutaties aangetoond in LFS families en sindsdien is DNA-analyse beschikbaar. Omdat er ook *TP53* mutaties werden gevonden in families, die niet aan de klassieke LFS criteria voldeden, werden minder strenge criteria opgesteld. De Li-Fraumeni-like (LFL) criteria omvatten nog steeds drie aangedane familieleden. Daarom werden in 2001 nieuwe criteria voor het verrichten van *TP53* diagnostiek opgesteld door Chompret, hierbij kwamen ook bepaalde sporadische patiënten in aanmerking voor *TP53* analyse. De Chompret criteria werden vernieuwd in augustus 2009 waarbij de leeftijden van diagnose werden aangepast en het sporadisch voorkomen van choroid plexus carcinoom werd toegevoegd. Tabel 1 geeft een overzicht van de LFS, LFL, Chompret en de vernieuwde Chompret criteria. In de literatuur wordt in ongeveer 75% van de klassieke LFS families, in 40% van de LFL families en in 30% van de families die voldoen aan de Chompret criteria een *TP53* kiembaan mutatie beschreven. Mutaties in het *TP53* gen komen verspreid over het hele gen voor en zijn meestal missense mutaties (77,3%). Tot nu toe zijn er 423 *TP53* kiembaan mutaties geïdentificeerd en weergegeven in de IARC mutatie database (<http://www-p53.iarc.fr/>). Het deel van deze mutaties wat nieuw (de novo) ontstaat wordt geschat tussen de 7 en 24%. Omdat niet in alle LFS en LFL families een *TP53* kiembaanmutatie wordt gevonden, zijn verschillende kandidaatgenen bekeken in families zonder *TP53* mutatie, tot dusver is er geen alternatief LFS gen geïdentificeerd. De kans om gedurende het leven kanker te krijgen wordt geschat op 68%-100% voor *TP53* mutatie dragers, de kans is voor vrouwen hoger dan voor mannen. Het management van *TP53* mutatie families blijft een lastige zaak, vanwege de vele tumortypen die op afwisselende plaatsen en op verschillende leeftijden kunnen ontstaan. Daar komt bij dat niet voor alle tumortypen vroegtijdige opsporing en behandeling beschikbaar is. Controle voor borstkanker wordt voor alle vrouwelijke mutatie draagsters geadviseerd, of mammografie vermeden moet worden vanwege de stralingsbelasting is nog niet duidelijk. Sommige auteurs adviseren een jaarlijkse klinische check-up en echo van de buik gedurende de kinderleeftijd, screening kan ook geadviseerd worden aan de hand van de in de familie voorkomende tumortypen (hoofdstuk 5.1). De belangrijkste doelstelling van het onderzoek (hoofdstuk 1.9) was om tot aanbevelingen te komen voor genetische counseling in Li-Fraumeni syndroom families door alle families, waarin *TP53* mutatie analyse is verricht in Nederland, te verzamelen en te evalueren in welke families daadwerkelijk een *TP53* mutatie werd gevonden (hoofdstuk 2). Daarnaast werd het *CHEK2* gen gescreend op mutaties, als een mogelijk kandidaat gen voor *TP53*-negatief Li-Fraumeni syndroom (hoofdstuk 3). De SNP309 (T>G variatie) in het *MDM2* gen werd zowel in *TP53*-positieve als *TP53*-negatieve families bekeken. In de *TP53*-positieve families werd gekeken naar het effect op de leeftijd van ontstaan van tumoren, in de *TP53*-negatieve families werd gekeken of de SNP309 een rol speelt in het bepalen van het fenotype (hoofdstuk 4). De complexiteit van counseling wordt in hoofdstuk 5 beschreven aan de hand van twee families.

**Tabel 1. Verschillende ingangscriteria voor *TP53* mutatie analyse**

<u>Klassieke LFS criteria</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- een proband met een sarcoom gediagnosticeerd voor de leeftijd van 45 jaar EN</li> <li>- een eerstegraads familielid met kanker voor de leeftijd van 45 jaar EN</li> <li>- een eerste- of tweedegraads familielid met kanker voor de leeftijd van 45 jaar of een sarcoom ongeacht op welke leeftijd</li> </ul>
<u>LFL criteria</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- een proband met een kindertumor of een sarcoom, hersentumor of bijnierschorscarcinoom voor de leeftijd van 45 jaar EN</li> <li>- een eerste- of tweedegraads familielid met een typische LFS tumor ongeacht op welke leeftijd EN</li> <li>- een eerste- of tweedegraads familielid in dezelfde familietak met kanker voor de leeftijd van 60 jaar</li> </ul>
<u>2001 Chompret criteria</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- een proband met een tumor uit het smalle LFS tumor spectrum (sarcoom, hersentumor, borstkanker en bijnierschorscarcinoom) voor de leeftijd van 36 jaar En tenminste één eerste- of tweedegraads familielid met een tumor uit het smalle LFS tumor spectrum (anders dan borstkanker als bij de proband borstkanker is geconstateerd) voor de leeftijd van 46 jaar of multiple primaire tumoren OF</li> <li>- een proband met multiple primaire tumoren waarvan er twee behoren tot het smalle LFS tumor spectrum en waarvan de eerste voor de leeftijd van 36 jaar is opgetreden OF</li> <li>- een proband met bijnierschorscarcinoom ongeacht de leeftijd van ontstaan of familieanamnese</li> </ul>
<u>Gereviseerde Chompret criteria 2009</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- een proband met een tumor uit het LFS tumor spectrum (sarcoom, hersentumor, borstkanker, bijnierschorscarcinoom, leukemie, longkanker (bronchoalveolair)) voor de leeftijd van 46 jaar En tenminste één eerste- of tweedegraads familielid met een LFS tumor (anders dan borstkanker als bij de proband borstkanker is geconstateerd) voor de leeftijd van 56 jaar of multiple primaire tumoren OF</li> <li>- een proband met multiple primaire tumoren (anders dan multiple borsttumoren), waarvan er twee behoren tot het LFS tumor spectrum en waarvan de eerste voor de leeftijd van 46 jaar is opgetreden OF</li> <li>- een proband met bijnierschorscarcinoom of een choroid plexus tumor, ongeacht de leeftijd van ontstaan of familieanamnese</li> </ul>

**Hoofdstuk 2** geeft een overzicht van alle families (180) die in Nederland getest zijn voor *TP53* kiembaan mutaties, en van de mutatie detectie kans en sensitiviteit voor de verschillende criteria waaraan deze families voldeden (Tabel 2). Van 1995 tot 2008 werden 180 families getest, er werden 24 mutatie families aangetoond. 105 families voldeden aan de gereviseerde Chompret criteria, in 22 families werd een *TP53* kiembaan mutatie aangetoond (mutatie detectie kans 21%, sensitiviteit 92%). In 8 van de 11 klassieke LFS families werd een kiembaan *TP53* mutatie gevonden (73%). 36 families voldeden aan de LFL criteria, waarvan 10 families een *TP53* kiembaan mutatie droegen (28%). De sensitiviteit van de klassieke LFS criteria in combinatie met de LFL criteria was 75% (18/24).

**Tabel 2.**

(familie) gegevens		aantal families (n=180)*	<i>TP53</i> -positieve families (n=24)
gereviseerde Chompret criteria	(inclusief 10 LFS en 31 LFL families)	105	22 (21%)
LFS		11	8 (73%)
	LFS maar niet passend in gereviseerde Chompret criteria	1	0 (0%)
LFL		36	10 (28%)
	LFL maar niet passend in gereviseerde Chompret criteria	4	0 (0%)
LFS-verdacht (maar niet passend in gereviseerde Chompret criteria, LFS, LFL)		70	2 (2.9%)

\*Totaal aantal families getest voor *TP53* kiembaan mutaties: 105 + 1 + 4 + 70 = 180

De mutatie detectie kans in families die voldeden aan de gereviseerde Chompret criteria was 21% met een hoge sensitiviteit (22 van de 24 mutaties zouden opgespoord zijn, 92%). Wij adviseren dan ook *TP53* mutatie analyse te verrichten in alle families die voldoen aan de gereviseerde Chompret criteria. De twee mutaties die niet gevonden zouden zijn als deze criteria waren gebruikt, werden aangetoond in een kind, waarbij een rhabdomyosarcoom werd geconstateerd op 4-jarige leeftijd, en een vrouw, die borstkanker ontwikkelde op 24-jarige leeftijd. Daarom zou *TP53* mutatie analyse eventueel ook overwogen kunnen worden in het geval van een sarcoom op de kinderleeftijd of borstkanker voor de leeftijd van 30 jaar, nadat mutaties in *BRCA1/2* zijn uitgesloten. In het tweede deel van de studie worden de verschillende tumortypen beschreven met bijbehorende kansen om deze tumoren te ontwikkelen ten opzichte van de algemene bevolking. Het relatieve risico (RR) om pancreascarcinoom, coloncarcinoom en leverkanker te ontwikkelen was significant verhoogd voor *TP53* mutatie dragers. Omdat voor één van de twee gevallen van leverkanker, levermetastasen in plaats van primair leverkanker niet uitgesloten kon worden, zouden alleen pancreas- en coloncarcinoom tumoren kunnen zijn die bij het LFS tumorspectrum horen.

De mutatie detectie kans in families verdacht voor LFS is geen 100%, wat geleid heeft tot de hypothese dat andere kandidaat genen een rol spelen. In **hoofdstuk 3** wordt het *CHEK2* gen als mogelijk kandidaat gen voor het Li-Fraumeni syndroom beschreven en de resultaten van *CHEK2* analyse in onze *TP53*-negatieve families. *CHEK2* analyse werd verricht in 65 *TP53*-negatieve patiënten uit families verdacht voor LFS (één klassieke LFS familie, 35 LFL families en 29 families suggestief voor LFS) om de bijdrage van het *CHEK2* gen aan het LFS/LFL phenotype te bepalen. In 6 patiënten werd een *CHEK2* variant aangetoond, vier maal de c.1100delC variant en twee maal een variant waarvan de betekenis onduidelijk was, p.Phe328Ser en c.1096-?\_1629+?del. In alle vier de *CHEK2* c.1100delC families leek de variant geassocieerd te zijn met borstkanker of borst- en darmkanker, zonder bewijs dat de variant het complete LFS



fenotype in deze families kon verklaren. In onze serie was de frequentie van de *CHEK2* c.1100delC 6.2% (4/65), wat significant verschilde van de gezonde controles ( $p=0,006$ ). Onze data illustreren dat het *CHEK2* gen geen kandidaat gen is voor het Li-Fraumeni syndroom in Nederland, maar het *CHEK2* gen kan wel een factor zijn die bijdraagt aan de ontwikkeling van individuele tumoren. Op die manier kan een familie, waarin een *CHEK2* mutatie voorkomt, wel aan het LFS fenotype gaan voldoen. Naast het *CHEK2* gen, kunnen nog vele andere modifierende genen of laag penetrante genen een rol spelen in families met een fenotype verdacht voor LFS.

De invloed van modifierende genen kan ook een verklaring zijn voor de variatie in klinische expressie in *TP53* mutatie families. In 2004 werd een associatie beschreven tussen een SNP (single nucleotide polymorphism) in het *MDM2* gen en het op jongere leeftijd ontstaan van tumoren bij *TP53* mutatie dragers. In **hoofdstuk 4** wordt de evaluatie van deze bevinding in onze patiënten populatie beschreven. Om de studie populatie te vergroten, werden 11 Finse *TP53* mutatiedragers geïncludeerd. Onze resultaten bevestigden de bevinding en lieten zelf een 16 jaar jongere leeftijd van ontstaan van tumoren zien bij *TP53* mutatiedragers met een SNP309 G allel (G/G and G/T) ten opzichte van *TP53* mutatiedragers met een SNP309 T/T allel. Daarnaast werd gekeken of het SNP309 G allel ook een rol speelde in de *TP53*-negatieve LFS en LFS-verdachte patiënten. De leeftijd van ontstaan van tumoren was in deze groep niet significant verschillend tussen de SNP309 G allel patiënten en de SNP309 T/T patiënten. Wel werd een hogere prevalentie gevonden van homozygote SNP309 G/G dragers in de *TP53*-negatieve families dan in de algemene bevolking. Deze data suggereren dat homozygotie voor SNP309 (G/G) bijdraagt aan het Li-Fraumeni fenotype, bevestiging van deze bevinding in andere populaties is nodig.

In **hoofdstuk 5** wordt aan de hand van twee voorbeelden de complexiteit van counseling in *TP53* mutatie families beschreven. **Hoofdstuk 5.1** beschrijft een familie met een p.Arg213Gln *TP53* kiembaan mutatie waarin veel voorkomende tumoren op relatief latere leeftijd optreden, hoewel de familie voldoet aan de LFL criteria. Daarbij werden er in deze familie 10 gezonde mutatiedragers gezien, zonder maligniteit (leeftijd 21-53 jaar) and 3 van de 15 aangedane familieleden bleken geen mutatiedrager te zijn. Daarom werd het functionele effect van deze specifieke mutatie in kaart gebracht en de mogelijkheid van andere genetische defecten, die een rol zouden kunnen spelen in deze familie, geëvalueerd. Een functionele test (FASAY) toonde aan dat het gemuteerde allel geen transcriptie activiteit bezit en er werden geen mutaties gevonden in *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *MLH1*, *MSH2* en *MSH6* in geselecteerde familieleden. Daarnaast werd deze specifieke mutatie eerder gevonden in een klassieke LFS familie en als somatische mutatie, bevindt deze mutatie zich in het DNA-bindende domein en werd de mutatie niet terug gevonden in gezonde controles. Op basis van deze resultaten werd geconcludeerd dat deze p.Arg213Gln *TP53* mutatie een oorzakelijke factor is in deze familie en dat specifieke *TP53* kiembaan mutaties kunnen leiden tot een verminderde penetrantie en hogere gemiddelde leeftijd van ontstaan van tumoren. **Hoofdstuk 5.2** laat een klassieke LFS familie zien waarin twee *TP53* kiembaan mutaties worden aangetoond, een intron 5 splice site mutatie en de p.Asn235Ser mutatie in exon 7. Deze exon 7 mutatie werd gevonden in een gezond familielid, waarbij presymptomatisch DNA onderzoek werd verricht. Deze mutatie was al meerdere keren gerapporteerd in de literatuur als pathogene mutatie. De exon 7 mutatie segregeerde niet in onze familie, een functionele test (FASAY) liet een normale transcriptie activiteit zien en de exon 7 mutatie werd eenmaal terug gevonden in 300 gezonde controles. Daarnaast voorspelden splice site predictie programma's geen cryptische splice site en werden in de 5 eerder gerapporteerde families met deze mutatie geen functionele testen verricht of controles getest, niet één van deze 5 families voldeed aan de klassieke LFS criteria. Daarom werd geconcludeerd dat de p.Asn235Ser *TP53* mutatie een zeldzame neutrale variant is of op zijn hoogst een laag penetrant allel in plaats

van een pathogene mutatie voor LFS. Als een kiembaan mutatie wordt gevonden waarvan het functionele effect onduidelijk is, zullen altijd aanvullende testen uitgevoerd moeten worden om aan te tonen dat een mutatie pathogeen is.

De algemene discussie in **hoofdstuk 6** beschrijft de mutatie detectie kans en de sensitiviteit van de verschillende criteria die in Nederland gebruikt worden om in te schatten of in een familie een *TP53* mutatie aanwezig kan zijn. Wij adviseren de gereviseerde Chompret criteria te gebruiken, omdat dan een hoge sensitiviteit behaald wordt in combinatie met een mutatie detectie kans van 21%, de mutatie detectie kans bij vrouwen met borstkanker op jonge leeftijd wordt besproken. Daarnaast worden de mogelijke psychologische gevolgen van *TP53* mutatie diagnostiek beschreven. Ook wordt de rol van modificerende genen en laag penetrante genen in families met een LFS fenotype geëvalueerd. Naast het *CHEK2* gen en de SNP309 in het *MDM2* gen, kunnen ook andere genen geïdentificeerd worden die invloed hebben op het familiale fenotype van *TP53*-negatieve families en op het fenotype van *TP53* mutatie dragers. Tenslotte worden aanbevelingen gedaan voor toekomstig onderzoek.

De resultaten van dit proefschrift in combinatie met gegevens uit de literatuur hebben geleid tot een richtlijn voor Li-Fraumeni syndroom met aanbevelingen voor het verrichten van DNA onderzoek, screening en behandeling, weergegeven in **het Addendum**. Deze richtlijn is tot stand gekomen in samenwerking met de werkgroep klinische oncogenetica (WKO) en de Stichting Opsporing Erfelijke Tumoren (STOET) in Nederland.

